

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 1 年 6 月 2 1 日
Date of Application:

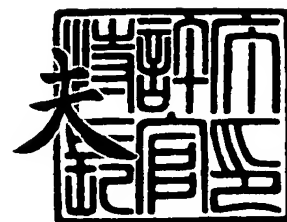
出 願 番 号 特 願 2 0 0 1 - 1 8 7 7 8 3
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 1 - 1 8 7 7 8 3]

出 願 人 不 二 製 油 株 式 会 社
Applicant(s):

2 0 0 3 年 1 2 月 1 5 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康



【書類名】 特許願

【整理番号】 PP12450S

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A23L 1/20
A23L 2/52

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南
事業所内

【氏名】 津崎 真一

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南
事業所内

【氏名】 荒木 秀雄

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南
事業所内

【氏名】 橋本 征雄

【特許出願人】

【識別番号】 000236768

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号

【氏名又は名称】 不二製油株式会社

【代表者】 安井 吉二

【電話番号】 0724-63-1564

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 029377

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1



【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 大豆類の水抽出液から pH 5.5 以上 7 以下、かつ温度 0℃以上 17℃以下において不溶物を除去することを特徴とする可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法。

【請求項 2】 プロテアーゼを作用させた大豆類の水抽出液から pH 2 以上 5.5 未満、かつ温度 0℃以上 17℃以下において不溶物を除去することを特徴とする可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法。

【請求項 3】 大豆類が物理的处理を施さない丸大豆、脱皮大豆もしくは大豆胚軸より選択されるいずれか 1 つ又はそれらの混合物である請求項 1 又は請求項 2 のいずれかに記載の可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 大豆にはイソフラボンとして、配糖体であるダイジン、ゲニスチン及びグリシチン、これらのマロニル配糖体、アセチル配糖体、及びアグリコン等が含まれている。これらのイソフラボンには、エストロゲン様作用、抗酸化作用などが認められており、癌、骨粗鬆症の予防や更年期障害を緩和させる食品成分として世界的に注目されている。しかしながら、イソフラボンは水に対して難溶性であるがゆえに、食品、特に飲料分野においては利用が制限され、溶解性の改善が望まれていた。

【0003】

この課題を改善する方法として、例えば特開平 9-309902 号公報、特開平 10-298175 号公報ではイソフラボンをサイクロデキストリンで包接することにより水に対する溶解性を向上させる方法が開示されている。しかしながら、これらの方法はイソフラボンを予め一定の純度に精製する必要があること、

またサイクロデキストリンを含有するため、飲料に使用した場合、フレーバーなどの香気成分をも包接してしまうため香味のバランスが崩れやすく商品設計に支障をきたしてしまう欠点がある。また、サイクロデキストリン自身の溶解度に左右されるため高濃度には溶解させることができない。一方、特開 2000-325043 号公報ではイソフラボンと無水又は含水プロピレングリコール及び／又はオクテニルコハク酸澱粉からなる可溶化剤とを水の存在下で加熱してイソフラボンを溶解させる方法が開示されている。しかしながら、プロピレングリコールやオクテニルコハク酸澱粉等の食品添加物は、最近は利用しない方が好まれる傾向にある。さらに、特開 2000-327692 号公報では α -グリコシル糖化合物の存在化で糖転移酵素を作用させて α -グリコシルイソフラボン誘導体とすることにより溶解性を向上させる方法が開示されている。しかしながら、本法では等モル以上の α -グリコシル糖化合物を添加しなければならず、必然的に固形物当たりのイソフラボン含有量が低下してしまう。また、飲料に使用する場合低温での長期安定性が品質上重要であるが、これらに関しては何ら記載されていない。したがって、このような問題点を一掃する可溶性イソフラボンが強く望まれている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、大豆類を原料として可溶化剤の添加や化学修飾などを施すことなく天然の状態を高濃度まで溶解し、かつ安定性に優れた可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記の課題に対して鋭意研究を重ねた結果、大豆類を抽出した抽出液から低温下で生じる不溶物を除去することにより中性域から微酸性域での溶解性に非常に優れたイソフラボン含有組成物が効率よく得られること、またプロテアーゼを作用させて蛋白質を低分子化した当該抽出液から酸性低温下で生じる不溶物を除去することにより、中性域から酸性域での溶解性に非常に優れたイソフラボン含有組成物が得られることを見出し本発明を完成させた。

即ち、本発明は、大豆類の水抽出液から pH 5.5 以上 7 以下、かつ温度 0℃

以上 17℃以下において不溶物を除去することを特徴とする可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法、及びプロテアーゼを作用させた大豆類の水抽出液から pH 2 以上 5.5 未満、かつ温度 0℃以上 17℃以下において不溶物を除去することを特徴とする可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法である。

原料である大豆類としては物理的处理を施さない丸大豆、脱皮大豆、脱皮脱胚軸大豆、もしくは大豆胚軸より選択される何れか 1 つ又はそれらの混合物を使用することが好ましい。

【0006】

【発明の実施の形態】以下、本発明を具体的に説明する。先ず本発明におけるイソフラボンとは、大豆中に存在する 3-フェニルクロモン骨格を有する化合物群であり、具体的には配糖体であるダイジン、ゲニスチン、グリシチン、及びマロニル配糖体である 6''-O-マロニルダイジン、6''-O-マロニルゲニスチン、6''-O-マロニルグリシチン、及びアセチル配糖体である 6''-O-アセチルダイジン、6''-O-アセチルゲニスチン、6''-O-アセチルグリシチン、及びアグリコンであるダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインをさす。これらの基本構造及び種類を化 1～化 2 に示す。

【0007】

【化 1】

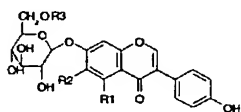


図 1 を基本骨格
とする化合物群

	R 1	R 2	R 3
ダイジン	H	H	H
ゲニスチン	OH	H	H
グリシチン	H	OCH ₃	H
6''-O-マロニルダイジン	H	H	COCH ₃ COOH

6''-O-マロニルゲニスチン	OH	H	COCH ₃ COOH
6''-O-マロニルグリシチン	H	OCH ₃	COCH ₃ COOH
6''-O-アセチルダイジン	H	H	COCH ₃
6''-O-アセチルゲニスチン	OH	H	COCH ₃
6''-O-アセチルグリシチン	H	OCH ₃	COCH ₃

【0008】

【化2】

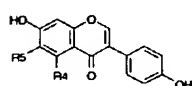


図2を基本骨格
とする化合物群

R 4 R 5

ダイゼイン	H	H
ゲニステイン	OH	H
グリシテイン	H	OCH ₃

【0009】

本発明の原料である大豆類とは、丸大豆、脱皮大豆、脱皮脱胚軸大豆、大豆胚軸、脱脂大豆などであり、特に大豆胚軸はイソフラボンの含量が約1～2%と他の部位に比べ高く好適な原料である。通常、これらの原料からイソフラボンを水抽出する前処理として、例えば原料に粉碎や圧扁や膨化等の物理的処理や焙煎、蒸煮、乾燥等の加熱処理、あるいは化学的処理等の所望の前処理を施すことができる。

本発明においては、粉碎、圧扁、膨化等の物理的処理により原料の表層部を壊さない方が好ましい。粉碎や圧扁や膨化等の物理的処理を施した原料を用いて水抽出を行うと、内部に含有している蛋白や油分などの不要な成分が水抽出時に多量に滲出する傾向にあり、イソフラボン含有組成物の溶解性や、不溶物を除去す

る際のイソフラボン収率に支障をきたす場合があるためである。本態様によれば、原料からの蛋白質や脂質の滲出を抑制することが可能である。

また大豆胚軸を原料に用いる場合は、特開 2 0 0 0 - 1 4 3 4 8 号公報に記載の方法により、予め特定の度合いに加熱処理することにより大豆胚軸特有の苦味や収斂味を低減させた上で抽出に供するのが望ましい。

さらに、これらの原料からイソフラボンを水抽出する際は、前処理として大豆類を予め低温の水と接触させた後、液部を分離してイソフラボン以外の糖類等の可溶性成分を除去し、次いでその残渣を熱水抽出するのがイソフラボンの純度を高める点で好ましい。

【0 0 1 0】

イソフラボンの抽出方法としては、アルコール又は含水アルコール等の水性溶媒を使用することもできるが、溶媒中のアルコール濃度が高くなるにつれ大豆中の油分やフェノール類などの悪風味成分も同時に抽出される傾向にあるため、可溶性で風味良好な抽出液を得るには水で抽出することが好ましい。抽出方法は例えば特開 2 0 0 0 - 1 4 3 4 8 号公報に記載の方法を用いることができる。抽出温度はイソフラボンが水で通常抽出される温度で行えば良いが、温度が低すぎる場合にはイソフラボンの収率が低下し、製造上非効率であるため、通常 8 0 ℃以上、好ましくは 8 0 ~ 1 5 0 ℃、より好ましくは 8 0 ~ 1 0 0 ℃が適当である。抽出時の原料と水との重量比は特に制限されないが、通常 1 : 3 ~ 1 : 3 0、好ましくは 1 : 5 ~ 1 : 1 5 である。水との接触時間はイソフラボンの抽出量が最大になるよう適宜調節するが、通常 5 分 ~ 6 0 分程度である。また、必要に応じて水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、重曹、炭酸ナトリウムなどを添加して抽出時の pH を 7 ~ 1 0 の弱アルカリ性にするによりイソフラボンの抽出効率を向上させることもできるが、蛋白質等も同時に抽出される傾向にあるため、pH を上げなくともよい。さらに、グリセリン脂肪酸エステルやソルビタン脂肪酸エステルなどの界面活性剤を水に対し 0. 0 1 ~ 1. 0 w/v % 添加してもよい。抽出方式はバッチ式、連続式、向流式、多段式など種々の方法で行うことができ、効率を上げるために攪拌したり、抽出液を再度新たな原料の抽出用水として利用することもできる。

このようにして抽出を行った後、例えばろ過、遠心分離などの固液分離を行い抽出液を得る。なお固液分離の際、抽出残渣を圧搾すると、内部に含有している蛋白や油分などが滲出するため好ましくない。

【0011】

このようにして得られた抽出液（イソフラボン含有液）は、イソフラボン含量が無水物換算で通常0.2～8重量%、粗蛋白質含量が無水物換算で30重量%以下、好ましくは25重量%以下、脂質含量が無水物換算で4重量%以下、好ましくは2重量%以下である。例えば大豆を磨碎して抽出した豆乳の粗蛋白質含量は無水物換算で40～55重量%、脂質含量は無水物換算で25～35重量%であり、本イソフラボン含有液は抽出の際の粗蛋白質及び脂質の滲出が抑えられている。

なお、イソフラボン量の測定は（財）日本健康・栄養食品協会の大豆イソフラボン食品規格基準分析法に従い、下記のように行い、12種類のイソフラボン量の総和を算出する。粗蛋白質含量はケルダール法にて、脂質含量はクロロホルムメタノール混液抽出法にて測定する。

【0012】

<イソフラボン量の測定方法>

イソフラボンとして1～10mgに対応する試料を要すれば粉碎した後精密に秤量し、これに70%（v/v）エタノールを25mL加える。30分間室温で攪拌抽出した後、遠心分離して抽出液を得る。残渣は同様の抽出操作を更に2回行う。計3回分の抽出液を70%（v/v）エタノールで100mLに定容して試験溶液とする。調製した試験溶液を0.45 μ mのフィルターで濾過した後に、下記のHPLC条件により分析する。カラム：YMC-Pack ODS-AM303（4.6×250mm）、移動相：アセトニトリル：水：酢酸＝15:85:0.1～35:65:0.1（v/v/v）、流速：1.0ml/min、温度：35℃、検出：UV254nm、注入量：10 μ L、ダイジン標準品を用いて12種類のイソフラボン濃度（ダイジン換算値）を定量し、下記の定量係数を乗じることにより真のイソフラボン濃度を算出する。イソフラボンの定量係数：ダイジン（1.000）、ゲニスチン（0.814）、グリシチン（1.090）、マロニルダイジン（1.444）、マロニルゲニスチン（1.095）、マロニルグリシチン（1.351）、アセチルダイジン（1.

094)、アセチルゲニスチン (1.064)、アセチルグリシチン (1.197)、ダイゼイン (0.583)、ゲニスチン (0.528)、グリシチン (0.740) そして各種イソフラボン濃度の総和からイソフラボン量を求める。

【0013】

次に、本発明の抽出過程におけるより好ましい態様を示す。熱水抽出前に前処理として大豆類を低温の水と接触させた後、液部を分離してイソフラボン以外の糖類等の可溶性成分を除去し、次いでその残渣を上記のごとく水抽出する方法である。前処理における温度は80℃未満、好ましくは4～40℃であり、当該温度より低い温度でも十分可能であるが、冷却のための費用も増大し実用性が低いので好ましくない。前処理時の原料と水との重量比は特に制限されないが、通常1:3～1:30、好ましくは1:5～1:15である。水との接触時間は液部のイソフラボン以外の固形物抽出量が最大になるよう適宜調節するが、通常約5分～240分である。水との接触方法は、上記水抽出法と同様、バッチ式、連続式、向流式、多段式など種々の方法で行うことができる。このようにして前処理を行った後、例えばろ過、遠心分離などの固液分離により液部を除去し、得られた残渣について上記のごとく水抽出を行う。このようにして得られたイソフラボン含有液は、イソフラボンを無水物換算で通常0.4～8重量%含有している。また、これらのイソフラボン含有液以外にも、豆腐や豆乳の製造時に生じる浸漬廃液や煮豆製造時に生じる煮汁廃液なども、もちろんイソフラボン含有液として利用できる。

【0014】

以上のごとくして得られたイソフラボン含有液をpH5.5以上7以下、かつ温度0℃以上17℃以下、好ましくは0℃以上10℃以下に冷却した後、10分以上、好ましくは30分以上当該温度にて保持することにより低温不溶物を形成させる。その後、例えばろ過、遠心分離などにより当該不溶物を除去して可溶性イソフラボン含有組成物を得る。なお、pHを5.5まで調整する場合に使用する酸は、通常食品に用いられる無機酸、有機酸であればどのようなものでもよく、例えば塩酸、硫酸、リン酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸及びアスコルビン酸などが挙げられるが、好ましくは塩酸が適当である。通常、大豆類の水抽

出液に含まれるイソフラボンは、冷却によって蛋白質等が沈殿する際にその蛋白質等と共に沈殿（共沈）しやすいことが知られている。しかしながら、本発明では粉碎などの物理的処理を施さない原料を用いることにより、原料からの蛋白質等の滲出を抑えることができるため、共沈を防止し、イソフラボンの収率の低下を抑制することができる。このようにして得られた可溶性イソフラボン含有組成物は、大豆類の種類にもよるが、例えば大豆胚軸を原料とした場合のイソフラボン含有量は固形分中 0.2～8 重量%である。

【0015】

このようにして得られた可溶性イソフラボン含有組成物は、適宜濃度を調整してそのまま使用するか、或いは必要に応じて中和後、濃縮して得られる濃縮エキスやさらに凍結乾燥、噴霧乾燥などにより乾燥物として使用でき、pH 7 の中性域から pH 5.5 の微酸性域での溶解性、及び安定性に非常に優れている。単離されたイソフラボンの水 1 L に対する溶解度は 0.03 g 程度であるが、本発明により得られる可溶性イソフラボン含有組成物はイソフラボンとして 3 g 以上（3～1000 g）、すなわち 100 倍以上溶解させることが可能であり、かつ冷蔵保存における白濁・沈殿に対する安定性も非常に優れている。よって、中性～微酸性のあらゆる食品、例えば茶系飲料等の中性飲料やコーヒー等の微酸性飲料をはじめ冷菓、デザートなどあらゆる食品に、透明性を保持しつつ、かつ高濃度に利用することができる。

【0016】

なお、本発明において溶解度とは、25℃において溶媒 1 L に対して溶解する溶質の最大量（g）のことをいう。

【0017】

一方、通常、イソフラボン含有液を pH 5.5 未満の酸性域にすると当該溶液に含まれる蛋白質が等電点沈殿すると同時に、イソフラボンも蛋白質との相互作用により共沈してしまい、低温下での共沈と共に相乗的に収率が極端に低下する。本発明者らの知見に寄れば、大豆類の抽出液を pH 5.5 未満に調整し、生じた不溶物を除去した溶液中のイソフラボン量は抽出液の半分程度にまで減少してしまい、効率的生産は困難であった。

【0018】

イソフラボンの共沈を防ぎ、かつ酸性域での溶解性を向上させるには、上記で得られたイソフラボン含有液に、蛋白質分解酵素（プロテアーゼ）を作用させて蛋白質が低分子化されていること、さらにこれを pH 2 以上 5.5 未満、かつ温度 0℃ 以上 17℃ 以下において不溶物を除去することを必須要件とすることにより可能となる。

【0019】

本発明におけるプロテアーゼの種類及び作用工程については特に制限されないが、通常、イソフラボン含有液の pH は 6～7 であるため、中性プロテアーゼ或いはアルカリ性プロテアーゼを用い、イソフラボン含有液に作用させることが好適である。さらに、プロテアーゼ中に夾雑物として β -グルコシダーゼが存在すると、本過程においてイソフラボン配糖体中のアグリコン部分と糖部分を結合する β -グルコシド結合が切断されて、アグリコン（ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテイン）が遊離する。アグリコンは一般的に配糖体よりも溶解度が低いため望ましくない。従って、プロテアーゼの起源については β -グルコシダーゼ活性の低い動植物起源のものが好ましく、微生物起源のものであっても β -グルコシダーゼ活性が低ければ何ら支障はない。またプロテアーゼを作用させる工程は、イソフラボン含有液の調製後、かつ pH の酸性域への調整前に作用させることがより好ましい。抽出前に前処理として大豆類を低温の水と接触させる際に本工程を同時に行う方法や、耐熱性のプロテアーゼを用いて抽出段階で本工程を同時に行う方法も可能であるが、これらの場合蛋白質が低分化し、多量に抽出される傾向にある。また下記のごとくイソフラボン含有液を酸性域に調整した後、酸性プロテアーゼを作用させても良いが、この場合蛋白質が等電点沈殿により不溶化しているため、プロテアーゼの作用が極端に低下してしまう傾向にある。

【0020】

プロテアーゼの作用条件は、イソフラボン含有液中の蛋白質を低分子化できる条件であればよく、プロテアーゼの添加量は力価により適宜調節するが、通常イソフラボン含有液の固形物に対して固形物換算で 0.01～10 重量% 添加すればよい。反応条件は使用するプロテアーゼの至適条件より適宜調節するが、通常、

作用 pH は中性プロテアーゼの場合 6～8、アルカリ性プロテアーゼの場合は 8～10、作用温度は 40～60℃、作用時間は 0.5～5 時間が好適である。反応停止には、通常 80℃ 以上で加熱処理することにより当該酵素を失活させる。

【0021】

次いで、当該水溶液の pH を 2 以上 5.5 未満、好ましくは 2 以上 3.5 以下に調整し、さらに温度を 0℃ 以上 17℃ 以下、好ましくは 0℃ 以上 10℃ 以下に冷却した後、10 分以上、好ましくは 30 分以上当該温度にて保持することにより不溶物を形成させる。ここで、pH が 5.5 以上になると不溶物が析出しにくく、pH が 2 未満であるとイソフラボン自体の分解が懸念される。なお、pH を調整に使用する酸は、通常食品に用いられる無機酸、有機酸であればどのようなものでもよく、例えば塩酸、硫酸、リン酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸及びアスコルビン酸などが挙げられるが、好ましくは塩酸が適当である。次いで、この操作により生じた不溶物を例えばろ過、遠心分離などによって除去して可溶性イソフラボン含有組成物を得る。このようにして得られた可溶性イソフラボン含有組成物は、大豆類の種類にもよるが、例えば大豆胚軸を原料とした場合のイソフラボン含有量は固形分中 0.2～8 重量%である。

【0022】

上記のごとくして得られた可溶性イソフラボン含有組成物は pH 7 の中性域から pH 3.5 の酸性域での溶解性及び安定性に非常に優れている。単離されたイソフラボンの水 1 L に対する溶解度は 0.03 g 程度であるが、本発明により得られる可溶性イソフラボン含有組成物はイソフラボンとして 3 g 以上（3～1000 g）、すなわち通常の 100 倍以上溶解させることが可能であり、かつ冷蔵保存における白濁・沈殿に対する安定性も非常に優れている。よって中性から酸性のあらゆる食品や飲料において透明性を保持しつつ、かつ高濃度に利用することができる。

【0023】

このようにして得られた可溶性イソフラボン含有組成物は、適宜濃度を調整してそのまま使用するか、或いは必要に応じて中和後、濃縮して得られる濃縮エキスやさらに凍結乾燥、噴霧乾燥などにより乾燥物として使用できる。

【0024】

また、必要により例えばポリスチレン系、メタアクリル系、ODS系などの吸着剤を用いた精製法やブタノールなどの溶媒を用いた分別法により、イソフラボンがより一層高純度された可溶性イソフラボン含有組成物を得ることもできる。

【0025】

本発明により、これまでの問題を一掃することができるため、イソフラボンの利用用途が飛躍的に拡大される。

【0026】

【実施例】

以下に実施例を記載するが、この発明の技術思想がこれらの例示によって限定されるものではない。

<実験例1>

米国産大豆100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。本液の無水換算でのイソフラボン含量は1.3重量%、粗蛋白質含量は24重量%、脂質含量は1.0重量%であった。次いで、表1に示す温度20～0℃に冷却した後30分間放置した。このときのpHは6.5であった。その後、遠心分離により不溶物を除去して凍結乾燥により粉末化した。得られたイソフラボン含有組成物について水1Lに対するイソフラボンの溶解度(g)を測定した。さらに安定性試験としてイソフラボン10mg相当量の粉末を100mlの水に溶かした後、重曹或いはクエン酸でpH7～5.5に調整して10℃で1週間保存した。結果を表1に示す。

【0027】

(表1)

冷却温度 (℃)	イソフラボン 溶解度 (g)	安定性試験			総合 評価
		pH7	pH6	pH5.5	

20	>3	×	×	×	×
15	>3	○	○	○	○
10	>3	○	○	○	○
0	>3	○	○	○	○

安定性試験評価（○：沈殿なし、×沈殿あり）

【0028】

表1より、イソフラボン含有液から温度20℃未満で不溶物を除去することにより、得られたイソフラボン含有組成物の水に対する溶解性が飛躍的に向上し、さらに安定性試験では、pH7の中性域からpH5.5の微酸性域での安定性が非常に良好であった。

【0029】

<実験例2>

米国産大豆100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。このときのpHは6.5であった。本液の無水換算でのイソフラボン含量は1.3重量%、粗蛋白質含量は24重量%、脂質含量は1.0重量%であった。次に、この液にBacillus subtilis由来の中性プロテアーゼ（オリエンターゼ90N、阪急共栄物産（株）製）を固形物に対して0.9%添加し、50℃で1時間反応させた。次いで、80℃で30分間加熱して当該酵素を失活させた後、HClを加えて表2に示すpH及び温度に調整し30分間放置し、酸沈させた。その後、遠心分離により不溶物を除去し、NaOHを加えてpH6.5に中和し凍結乾燥により粉末化した。得られたイソフラボン含有組成物について水1Lに対するイソフラボン溶解度（g）を測定した。さらに安定性試験として得られたイソフラボン含有組成物のイソフラボン10mg相当量を100mlの水に溶かした後、重曹或いはクエン酸でpH7

～3に調整して10℃で1週間保存した。結果を表2に示す。

【0030】

(表2)

酸沈 pH	冷却温度 (℃)	イソフラボン 溶解量 (g)	安定性試験					pH	総合 評価
			7	6	5.5	4.5	3.5		
5.5	20	>3	×	×	×	×	×	×	×
5.5	15	>3	○	○	○	×	×	×	×
4.5	20	>3	○	○	○	×	×	×	×
4.5	15	>3	○	○	○	○	×	×	△
3.5	20	>3	○	○	○	×	×	×	×
3.5	15	>3	○	○	○	○	○	○	○
2.0	15	>3	○	○	○	○	○	○	○

安定性試験評価 (○沈殿なし、×沈殿あり)

総合評価 (○良好、△可、×不可)

【0031】

表2より、イソフラボン含有液からpH5.5未満、かつ温度20℃未満で不溶物を除去することにより、得られたイソフラボン含有組成物は通常のイソフラボンよりも水に対する溶解性が飛躍的に向上し、さらに安定性試験においてpH7の中性域からpH3.5の酸性域での安定性が良好であった。

【0032】

<実施例1>

米国産大豆100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。本液の無水換算でのイソフ

ラボン含量は1.3重量%、粗蛋白質含量は24重量%、脂質含量は1.0重量%であった。これを10℃に冷却した後、当該温度にて30分間保持した。このときのpHは6.5であった。次いで、遠心分離により不溶物を除去した後、凍結乾燥により粉末化し、可溶性イソフラボン含有組成物9.4g（イソフラボン含量1.34%）を得た。

【0033】

<実施例2>

米国産大豆胚軸500gをガスロースターを用いて140℃の熱風で20分間乾熱加熱処理した。得られた大豆胚軸100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。本液の無水換算でのイソフラボン含量は6.0重量%、粗蛋白質含量は22重量%、脂質含量は0.5重量%であった。これを10℃に冷却した後、当該温度にて30分間保持した。このときのpHは6.5であった。次いで、遠心分離により不溶物を除去した後、凍結乾燥により粉末化し、可溶性イソフラボン含有組成物18.7g（イソフラボン含量6.06%）を得た。

【0034】

<実施例3>

米国産大豆100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。本液の無水換算でのイソフラボン含量は1.3重量%、粗蛋白質含量は24重量%、脂質含量は1.0重量%であった。このときのpHは6.5であった。この液に*Bacillus subtilis*由来の中性プロテアーゼ（オリエンターゼ90N、阪急共栄物産（株）製）を固形物に対して0.9%添加し、50℃で1時間反応させた。次いで、80℃で30分

間加熱して当該酵素を失活させた後、HClを加えてpH3.5に調整し、さらに10℃に冷却して30分間放置した。その後、遠心分離により不溶物を除去し、NaOHを加えてpH6.5に中和し凍結乾燥により粉末化し、可溶性イソフラボン含有組成物8.8g（イソフラボン含量1.40%）を得た。

【0035】

<実施例4>

実施例2と同様にして得た大豆胚軸100gに水500mlを加えて、前処理として20℃で2時間接触させた後、ろ過により液部を除去した。次いで、残渣に水500mlを加えて98℃で20分間抽出した後、ろ過により抽出液を得た。さらに、残渣に水500mlを加えて再度98℃で20分間抽出した後、同操作により抽出液を得た。得られた抽出液を混合し、イソフラボン含有液を得た。本液の無水換算でのイソフラボン含量は6.0重量%、粗蛋白質含量は22重量%、脂質含量は0.5重量%であった。このときのpHは6.5であった。Bacillus subtilis由来の中性プロテアーゼ（オリエンターゼ90N、阪急共栄物産（株）製）を固形物に対して0.9%添加し、50℃で1時間反応させた。次いで、80℃で30分間加熱して当該酵素を失活させた後、HClを加えてpH3.5に調整し、さらに10℃に冷却して30分間放置した。その後、遠心分離により不溶物を除去し、NaOHを加えてpH6.5に中和し凍結乾燥により粉末化し、可溶性イソフラボン含有組成物15.5g（イソフラボン含量6.32%）を得た。

【0036】

<実施例5>

実施例4で得た可溶性イソフラボン含有組成物10gを100mlの水に溶解し、活性化させたスチレンジビニルベンゼン系合成吸着剤（ダイヤイオンHP-20、三菱化成（株）製）100mlを充填したカラム（φ2.5cm×20cm）に100ml/hrの流速で通液した。次いで水200ml、20%エタノール200mlで順次洗浄して夾雑物を除去した後、70%エタノール300mlで目的物を溶出した。この溶液を減圧濃縮によりエタノールを除去した後、凍結乾燥して可溶性イソフラボン含有組成物1.5g（イソフラボン含量26.2%

）を得た。

【0037】

【発明の効果】

本発明により、大豆類を原料として可溶化剤の添加や化学修飾などを施すことなく天然の状態で通常のイソフラボンの約100倍以上高度な溶解性を有し、かつ冷蔵保存中に沈殿や白濁等の生じない、安定性に優れたイソフラボン含有組成物を簡便かつ効率よく得ることができるようになった。これにより、食品分野での使用用途が飛躍的に拡大され、産業上極めて有意義である。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】大豆類を原料として可溶化剤の添加や化学修飾などを施すことなく天然の状態で、中性～酸性下において高濃度まで溶解し、かつ安定性に優れた可溶性イソフラボン含有組成物の製造方法を提供する。

【解決手段】大豆類の水抽出液から pH 5.5 以上 7 以下、かつ温度 0℃以上 17℃以下において不溶物を除去することにより、中性域から微酸性域での溶解性に非常に優れたイソフラボン含有組成物が効率よく得られる。さらに、プロテアーゼを作用させた大豆類の水抽出液から pH 2 以上 5.5 未満、かつ温度 0℃以上 17℃以下において不溶物を除去することにより、中性域から酸性域での溶解性に非常に優れた可溶性イソフラボン含有組成物が効率良く得られる。

【選択図】 なし。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2001-187783
受付番号	50100899177
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成13年 6月22日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成13年 6月21日
-------	-------------

次頁無

特願 2 0 0 1 - 1 8 7 7 8 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 2 3 6 7 6 8]

1. 変更年月日

1 9 9 3 年 1 1 月 1 9 日

[変更理由]

住所変更

住 所

大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号

氏 名

不二製油株式会社